

MANUAL

Kit S QuickGene de extracción de ARN en Células en Cultivo (RC-S)

Para aislamiento de ARN total de muestras en células en cultivo

ÍNDICE

1 Introducción

Fuji Photo Film Co., LTD desarrolló y patentó una revolucionaria membrana porosa para inmovilizar ácido nucleico. Debido a su gran área superficial específica, y a su porosidad fina y uniforme, QuickGene aísla satisfactoriamente ARN total con alto rendimiento; y más aún , con la utilización de su membrana, elimina la mayoría de los contaminantes. QuickGene utiliza la técnica de filtración a presión, la cual no puede utilizarse satisfactoriamente con membranas típicas de fibra de vidrio; utilizando la técnica de filtración a presión se puede usar con gran éxito una nueva instrumentación, compacta y automatizada para la purificación rápida de ácido nucleico.
Utilizando el kit S de QuickGene para extracción de ARN en células en cultivo junto con la serie de Sistemas Automáticos de Aislamiento de Ácido Nucleico QuickGene se podrá aislar y también purificar el ARN total en células en cultivo con muy alta calidad y rendimiento. Adicionalmente, se pueden extraer simultáneamente 8 muestras de lisado de tejidos, en sólo 13 minutos, sin necesidad del uso de columnas "spin" o disolventes peligrosos como el fenol. El ARN total, de alta calidad, purificado, se puede utilizar para aplicaciones con RT-PCR , northern blot, y otras aplicaciones.

Por favor asegúrese de leer cuidadosamente este manual antes de la utilización del kit.

2 Componentes del kit

El kit incluye los reactivos necesarios para 96 conjuntos de aislamiento de ARN total.

- ❑ Tampón de Lisis (LRC)
- ❑ Tampón de Lavado (WRC)
- ❑ Tampón de Elución (CRC)
- ❑ Cartuchos (CA)
- ❑ Tubos de recogida (CT)
- ❑ Tapones (CAP)
- ❑ Tubos de desecho (WT)

3 Condiciones de Almacenamiento

Temperatura de almacenamiento para todos los reactivos: de 15 ºC a 28ºC

4 Otros materiales necesarios, no incluidos en este kit

♦**Reactivos**

- Etanol (>99%)
- 2 Mercaptoetanol (2-ME)
- PBS libre de RNasa
- DNasa para procesos opcionales. (A continuación se da una lista de productos recomendados)

RQ1 DNasa libre de RNasa	(Promega:Cat.No:M6101)
DNasa I, Grado Amplificación	(Invitrogen:Cat.No.18068-015)
DNasa I, Grado Amplificación	(Sigma:Cat. No.AMP-D1)
Desoxirribonucleasa (Grado RT)	(Nippon Gene:Cat No. 313-03161
DNasa I, libre de RNasa	(Ambion: Cat. No 2222)
Conjunto DNasa ,libre de RNasa	(QIAGEN Cat. No. 79254)

♦**Instrumentos y Equipamiento**

- Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene
- Tubos de Centrigufa de 1.5ml
- Tubos de Centrifuga (ver Tabla 1)
- Micropipetas y puntas
- Agitador Vortex Mixer
- Microcentrifuga (c.a. 5,000xg)
- Contenedor de tubos

Tabla 1. Tubos de Centrífuga recomendados

Tamaño del Contenedor de tubos de centrífuga de la serie QuickGene	**Tipo de tubo de centrífuga**	**Nombre del producto (ejemplos)**
Estándar	Tubo de centrífuga grande (para WRC)	Tubo cónico BD Falcon™ 50ml
	Tubo de centrífuga pequeño (para CRC)	Tubo cónico BD Falcon™ 15ml
Grande	Tubo de centrífuga grande (para WRC)	Tubo cónico BD Falcon™ 175ml Tubo cónico BD Falcon™ 225ml
	Tubo de centrífuga pequeño (para CRC)	Tubo cónico BD Falcon™ 50ml

Los tubos de centrifuga se usan con los Sistemas de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene como tubos contenedores del tampón de lavado (WRC) con etanol y del tampón de elución (CRC).

5 Advertencias sobre Seguridad

Advertencia: Para uso en investigación únicamente
No recomendado ni dirigido a aplicaciones diagnósticas o clínicas para humanos y animales.

Todos los reactivos y artículos del kit deberían considerarse química y biológicamente peligrosos. Durante la realización de los experimentos es altamente recomendable utilizar la vestimenta apropiada de laboratorio, guantes y gafas de seguridad . En caso de contacto de los reactivos con los ojos, la piel o la vestimenta, lávese inmediatamente con agua. (Consulte las recomendaciones específicas en la hoja de datos de Seguridad Material, http://www.fujifilm.co.jp/msds)

Tampón de Lisis (LRC)
No ingerir. Producto venenoso
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.
Utilice la vestimenta apropiada de laboratorio, guantes y gafas de seguridad.

Tampón de Lavado (WRC)
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

Tampón de Elución (CRC)
Tenga cuidado con el contacto de los reactivos con los ojos, y con su ingestión accidental.
En caso de contacto de los reactivos con los ojos, piel o vestimenta, lave inmediatamente con agua.

- Manipule el Tampón de Lisis (LRC) en un área bien ventilada y lejos de fuentes de calor. Mantenga el envase bien cerrado. Podría ser nociva su inhalación. No lo mezcle con desinfectantes, como la lejía.
- En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos y los consumibles: Cuando utilice muestras potencialmente infecciosas para sus experimentos, realice el tratamiento de los residuos de acuerdo con la normativa aplicable.

6 Advertencias

- Consulte el MSDS (hoja de datos de Seguridad Material) para revisar las recomendaciones específicas de manipulación y propiedad.. Esta hoja de datos (MSDS), se puede obtener de la siguiente página web: http://lifescience.fujifilm.com
- Consulte el Manual de usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de QuickGene, antes de utilizarlo.
-

<Prevención contra contaminación con RNasa>

- Lleve guantes desechables cuando manipule el kit y/o el ARN para prevenir la contaminación con RNasa
- Utilice materiales esterilizados plásticos desechables durante las operaciones. Estos materiales están casi libres de RNasa, pero no están garantizados, por lo tanto, puede no necesitar un proceso libre de RNasa.
- En caso de utilizar materiales metálicos o de vidrio, esterilícelos con aire caliente a 200ºC durante más de 16 horas.

7 Controles de Calidad

- La estabilidad de los reactivos está garantizada por 9 meses desde la compra siempre que se haya almacenado a la temperatura especificada (de 15ºC a 28ºC)
- Como parte del riguroso programa de calidad en Fuji Photo Film Co, LTD, las prestaciones del kit S QuickGene ARN en células en cultivo se evalúan rutinariamente, asegurando la uniformidad de lote a lote.
- Se ha verificado la no contaminación del kit S QuickGene ARN en células en cultivo por RNasa.
- Se ha comprobado la calidad y el rendimiento del ARN total aislado, por medio de la medida de la absorbancia a 260nm, relación de absorbancia (260nm/280nm) y amplificación RT-PCR.

8 Protocolos

8.1 Preparación de los Reactivos

Tampón de Lisis (LRC)
Mezcle muy bien antes de usar.
Si hay precipitados en el Tampón de Lisis, incube la botella en un baño de agua a 37ºC y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que el precipitado se haya disuelto. Una vez disuelto el Tampón de Lisis, enfríe la botella a temperatura ambiente antes de su uso.
Dispense el volumen requerido y añada 2- ME por 10µl/1ml LRC cada vez.

Tampón de Lavado (WRC)
Añada la disolución concentrada
Añada 90ml de etanol (>99%) en la botella y mezcle invirtiendo la botella suavemente antes de utilizar por primera vez.

Requerimientos para el Tampón de Lavado (WRC) con etanol (>99%) y el Tampón de Elución (CRC)
Prepare los volúmenes de muestra requeridos para la preparación del Tampón de Lavado (WRC) con etanol(>99%) y del Tampón de Elución (CRC) de acuerdo con el número de muestras para la extracción; siga la tabla siguiente:
Coloque los tampones en cada tubo y coloque los tubos en el Contenedor de Tubos del equipo QuickGene. (Consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de QuickGene).

Tabla 2 Volumen del tampón y número de muestras a colocar en el equipo QuickGene

Número de Muestras	WRC con Etanol	CRC
8	20 ml	8 ml
16	32 ml	9 ml
24	44 ml	11 ml
32	56 ml	12 ml
40	69 ml	13 ml
48	81 ml	14 ml
56	93 ml	15 ml
64	106 ml	16 ml
72	118 ml	17 ml
80	130 ml	18 ml
88	143 ml	19 ml
96	155 ml	20 ml

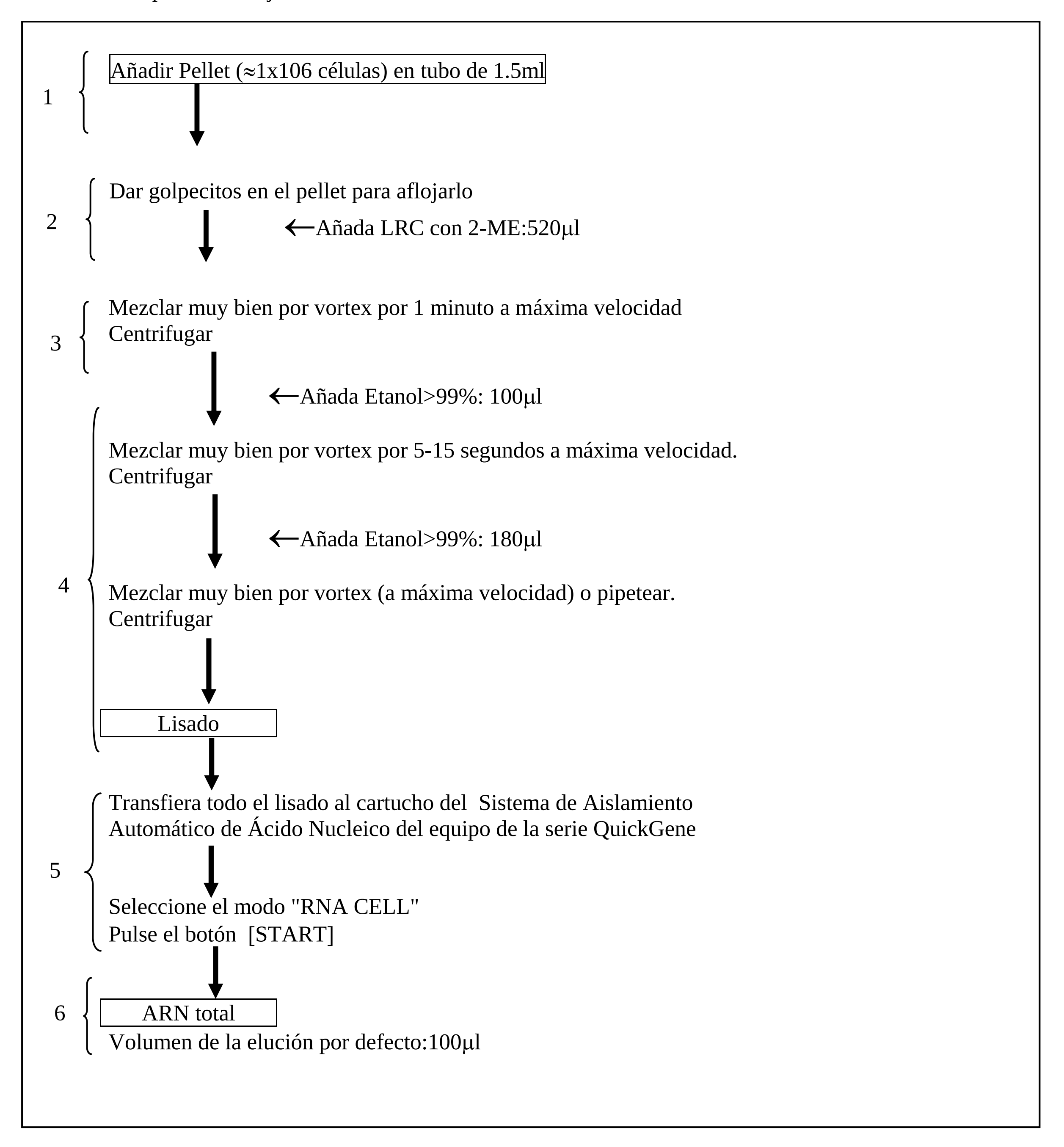
8.2 Preparación de Muestras

- Básicamente el kit S QuickGene de extracción de ARN en células en cultivo ha sido específicamente diseñado para el aislamiento de ARN total de una muestra de $1x10^6$ células en cultivo por cada ensayo.

Muestra (10^6 células)	Rendimiento (μg)	A260/280	A260/230
HL-60	10	2.0	2.1
U937	12	2.0	2.1
Hela	20	2.0	2.1
HEK293	15	2.0	2.1

- El rendimiento y el tiempo de preparación pueden variar dependiendo del volumen de la muestra, variedad de línea celular, condiciones de almacenamiento de las células y características del lisado.
- Mida con precisión el volumen del tampón durante los experimentos. En caso contrario se reduce la eficiencia y el rendimiento del aislamiento.
- Si mantiene las muestras a temperatura ambiente por un largo período de tiempo y/o congela y descongela repetidamente las muestras, el ARN se degradará y se reducirá el rendimiento de la extracción.
- Utilice pipetas calibradas para la preparación de los tampones. Los volúmenes se han ajustado para optimizar el rendimiento del sistema.
- Realice la operación con rapidez a temperatura ambiente (15 -28ºC)

<Etapas de Trabajo modo "RNA CELL" sin tratamiento de DNasa>



Notas

1. Si se utiliza un número excesivo de células, el rendimiento y la calidad serán bajos, y en algunos casos se podrían obstruir los cartuchos. Se recomienda contar las células cuidadosamente. Si el cartucho se obstruye, reduzca el número de células por debajo del valor especificado.
   Se pueden utilizar Pellet congelados para este protocolo. Una vez contado el número de células, éstas deberían marcarse y congelarse en nitrógeno líquido y conservarse a –70ºC.
   1a: Células crecidas en suspensión
   Cuente el número de células en cultivo y recoja $\approx 1x10^6$ células en un micro tubo de 1.5ml
   Centrifugue a 300xg por 5 minutos y retire el sobrenadante.
   Lave las células con PBS
   Centrifugue a 300xg por 5 minutos y retire el PBS.
   1b: Células crecidas en monocapa
   Una vez que las células se han tripsinizado del matraz o bandeja, cuente el número de células y confirme que sean menos de $1x10^6$ .Aspire completamente el medio de cultivo de las células, lávelas una vez con PBS y después aspire completamente el PBS.

2. Compruebe que ha dispensado el volumen requerido de LRC y añada 2-ME por 10μl/1ml LRC
   2a: Células crecidas en suspensión
   Afloje el pellet de células agitando ligeramente el tubo, entonces añada 520μl LRC
   En caso de utilizar un pellet congelado, añada previamente 20μl de PBS y afloje el pellet de células agitando ligeramente el tubo.
   Añada entonces 520μl LRC
   2b: Células crecidas en monocapa
   Añada 520μl LRC a la bandeja de cultivo o matraz y raspe para lisar las células con un raspador de células.
   Recoja el lisado de células en un micro tubo de 1.5ml

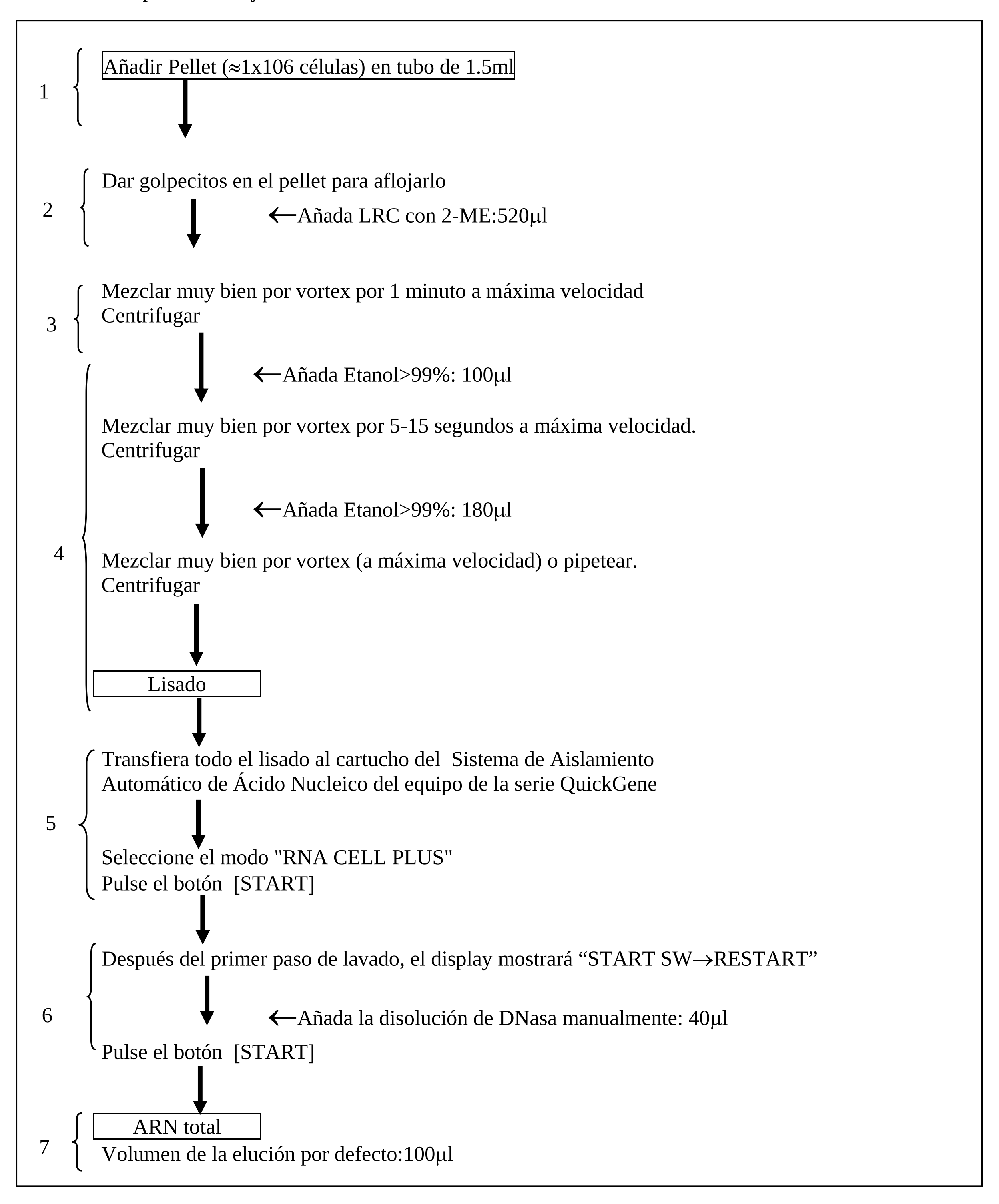
3. Homogenice por vortex durante un minuto y centrifugue para recuperar el lisado del tapón y las paredes del tubo.
   Utilice el agitador vortex a máxima velocidad.

4. Añada 100μl de etanol >99% y agite por vortex durante 5-15 segundos. Centrifugue para recuperar el lisado del tapón y las paredes del tubo.
   Y aún más, añada 180μl de etanol >99% y agite por vortex o pipetee para mezclar bien.
   Centrifugue para recuperar el lisado del tapón y las paredes del tubo.
   Utilice el agitador vortex a máxima velocidad.

5. Transfiera el lisado completo al cartucho del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene y pulse inmediatamente el botón START.
   Si hay presentes agregados en el lisado , aplíquelos con el lisado al cartucho.

6. El volumen estándar de elución por defecto es 100μl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50μl. En el caso de trabajar con una configuración de 50μl, el rendimiento podría bajar.
   Si no va a utilizar el ARN total eluído inmediatamente para otros experimentos, tapone los tubos de recogida (CT) con los tapones de tubo (CAP), y consérvelos a una temperatura entre –20ºC y –80ºC. En el caso de almacenamiento a –80ºC, transfiera la muestra a otro tubo cuyo uso esté certificado para temperaturas de –80ºC.

<Etapas de Trabajo modo "RNA CELL PLUS" con tratamiento con DNasa>



Notas

1 – 5 Vea <Etapas de Trabajo modo "RNA CELL" sin tratamiento con DNasa>

6. Añada la cantidad recomendada de DNasa manualmente después del primer paso de lavado; el display mostrará “START SW→RESTART”

   6.1 Recomendación para la preparación de DNasa

Nombre del Producto	Fabricante	Cat No.	Preparación	Concentración Final
RQ1 DNasa libre de RNasa	Promega	M6101		
DNasa I, Grado Amplificación	Invitrogen	18068-015		
DNasa I, Grado Amplificación	Sigma	AMP-D1		
Desoxiribonucleasa (Grado RT)	Nippon Gene	313-03161	1	20 U/40μl
DNasa I, libre de RNasa	Ambion	2222	2	40 U/40μl
Conjunto* DNasa ,libre de RNasa	QIAGEN	79254	3	3.4 Kunitz /40μl

*1; Disolver 1,500Kunits de DNasa I con 550μl de agua libre de RNasa (suministrada) antes de preparar la disolución reactiva de DNasa I.

Preparación 1

1U/μl DNasa I	20μl
10xTampón de reacción	4 μl
Agua libre de RNasa	16μl

Preparación 2

2U/μl DNasa I	20μl
10xTampón de reacción	4 μl
Agua libre de RNasa	16μl

Preparación 3

2.7 Kunitz /μl DNasa I	1.25μl
Tampón RDD	35 μl
Agua libre de RNasa	3.75μl

   6.2 Adición de DNasa I

   Abra la puerta frontal del instrumento y añada 40μl de disolución reaciva de DNasa I a cada cartucho utilizando micropipetas. No toque la membrana cuando añada la solución de DNasa I. Cierre la puerta frontal.

   6.3 Tiempo de espera por defecto para el tratamiento de DNasa: 5 minutos. Puede cambiar la configuración del tiempo como un parámetro del programa.

7. El volumen estándar de elución por defecto es 100μl, aunque se puede cambiar esta configuración a un valor inferior de volumen, hasta un mínimo de 50μl. En el caso de trabajar con una configuración de 50μl, el rendimiento podría bajar.
   Si no va a utilizar el ARN total eluído inmediatamente para otros experimentos, tape los tubos de recogida (CT) con los tapones de tubo (CAP), y consérvelos a una temperatura entre –20ºC y –80ºC. En el caso de almacenamiento a –80ºC, transfiera la muestra a otro tubo cuyo uso esté certificado para temperaturas de –80ºC.

8.3 Aislamiento de ARN total utilizando el Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene.

Notas: Configuración del sistema y operaciones básicas.
Por favor lea el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene antes de su uso.

(1) Selección del modo de aislamiento

Seleccione el modo “RNA CELL” or “RNA CELL PLUS” para el aislamiento de ARN total en células en cultivo con el kit.
(Ver Apéndice 1)

(2) Colocación de los cartuchos y los tubos

Abra la puerta frontal del instrumento y coloque los tubos de recogida y desecho en el contenedor de tubos de recogida .

- Utilice sólo los tubos especificados de recogida (CT) y los tubos especificados de desecho (WT) incluidos en el kit

  Monte el Contenedor de Cartuchos en el equipo y coloque de 1 a 8 cartuchos en el Contenedor de Cartuchos.
- Utilice sólo los Cartuchos especificados (CA)

Notas: Para detalles sobre el montaje de los tubos y cartuchos consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.
Una colocación incorrecta de los cartuchos puede provocar un aislamiento incorrecto o un vertido no deseado de la solución.
Utilice siempre guantes durante los experimentos para evitar la contaminación por nucleasas.

(3) Colocación de los reactivos

Prepare el volumen requerido (ver 8.1 Preparación de los reactivos) para el tubo del Tampón de Lavado (WRC) con etanol (>99%) y para el tubo del Tampón de Elución (CRC); colóquelos en el contenedor correspondiente y éste en su posición designada en el equipo.

Notas: Utilice siempre guantes durante la manipulación de los reactivos para evitar la contaminación por nucleasa.

- Para detalles sobre la colocación de los reactivos consulte el Manual de Usuario del Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico del equipo de la serie QuickGene.

(4) Descarga

Coloque la “bandeja de descarga” y compruebe la correcta colocación de los tubos de recogida y del contenedor de cartuchos.
Pulse el botón “DISCHARGE” después de haber cerrado la puerta frontal del instrumento.
Nota: La operación de descarga previa a la extracción resulta necesaria debido a que los tubos podrían contener algo de aire, y esto podría provocar una extracción de volumen de reactivos incorrecta.

(5) Aplicación de las muestras preparadas

Aplique el contenido de las muestras de lisado preparadas (Ver 8.2 Preparación de las Muestras), en cada cartucho (CA) utilizando micropipetas (cualquier agregado presente en el lisado deberá transferirse junto con el lisado al cartucho)

(6) Aislamiento

Cierre la puerta frontal del instrumento.
Confirme que se ha seleccionado el modo de operación apropiado en el panel de operación y pulse el botón [START]

(7) Recogida del ARN total
Una vez completado el proceso, el resultado de la extracción se indicará en el panel de operación como sigue:

✔: Extracción satisfactoria
- (guión): Extracción fallida
_ (subrayado): No cartucho, o No muestra

Abra la puerta frontal y retire el Tubo de Recogida (CT) de su alojamiento.
Ya que el ARN total es eluído de los Cartuchos (CA), si se ha utilizado un volumen de 100µl de Tampón de Elución (CRT), se recuperará una solución de ARN de 100µl.
Tapone correctamente los Tubos de Recogida (CT) que contienen el ARN total aislado con los Tapones de tubo (CAP)

(8) Recogida de Materiales
Retire los Tubos de Desecho (WT) y deshágase del líquido de desecho de acuerdo con la normativa aplicable.
Retire el contenedor de cartuchos y deshágase de los cartuchos (CA)

> **Advertencia**: En cuanto al tratamiento de los residuos líquidos y los consumibles: Cuando utilice muestras potencialmente infecciosas para sus experimentos, realice el tratamiento de los residuos de acuerdo con la normativa aplicable.

9 Resolución de Problemas

Revise la información que se da a continuación para resolver posibles problemas durante la realización de los experimentos con el kit S de células en cultivo de QuickGene. Para problemas relacionados con el sistema (esto es, cuando aparezca un mensaje de error en el equipo QuickGene), consulte el Manual de Usuario del equipo de la serie QuickGene.

(1) Bajo rendimiento o no obtención de ARN.

Causa	Posible Solución
Lisis inadecuada de células	Verifique que el tampón de Lisis (LRC) no contiene precipitados. Antes de su utilización, caliente a 37ºC para disolver cualquier precipitado detectado.
Lisis inadecuada de células (cuando se utilizan pellets congelados)	Puede darse agregación cuando LRC se añade a pellets congelados, y esto resultará en un rendimiento reducido. Si tiene que usar pellets congelados, resuspéndalos previamente con 20µl de PBS antes de añadir el tampón de lavado (LRC) conteniendo 2 - ME
Medio de cultivo de células residual	Asegúrese de retirar completamente el medio de cultivo cuando se preparen las células para su utilización.
Insuficiente homogenización a continuación de la adición del Tampón de Lisis (LRC) conteniendo 2-ME	Agite por vortex durante un tiempo suficiente (1 min), inmediatamente después de la adición del Tampón de Lisis (LRC).
No se ha añadido el volumen requerido de etanol al Tampón de Lavado (WRC)	Antes de comenzar compruebe siempre que se ha añadido el volumen requerido de etanol al Tampón de Lavado (WRC)
Se ha utilizado un Tampón de Lavado (WRC) usado previamente (incluido etanol).	Antes del uso, examine visualmente el Tampón de Lavado usado (WRC incluido etanol), el cual ha podido utilizarse durante un día o más en el instrumento
El lisado no se ha aplicado completamente a los cartuchos (CA)	Si hay presentes agregados en el lisado, aplíquelos en los cartuchos junto con el lisado.
Se ha usado una cantidad insuficiente de reactivos.	Asegúrese de que hay suficiente cantidad de reactivo en las botellas de reactivo
Se ha añadido un volumen insuficiente de DNasa (para aislamiento con tratamiento de DNasa)	Asegúrese de añadir el volumen suficiente de DNasa en la disolución.
La membrana se ha dañado cuando se añadió la disolución con DNasa (para aislamiento con tratamiento de DNasa)	Evite contacto físico con la membrana cuando se añada la disolución con DNasa
El ARN se ha degradado	Ver sección (4)
La Temperatura de operación es alta	Realice todas las operaciones a temperatura ambiente (15-28ºC)

(2) Baja Pureza (A260/A280)

Causa	Posible Solución
Se ha usado una cantidad excesiva de muestra.	Reduzca la cantidad de muestra de tejido a utilizar, a una cantidad por debajo de la especificada.

(3) Obstrucción del Cartucho

Causa	Posible Solución
Insuficiente homogenización a continuación de la adición del Tampón de Lisis (LRC) conteniendo 2-ME, o etanol >99%	Inmediatamente después de la adición del Tampón de Lisis (LRC), conteniendo 2 -ME, agite por vortex por un período de tiempo suficiente (1min.). Después de la adición del etanol >99% agite por vortex o pipetee por un período de tiempo suficiente (1min.).
Se ha usado una cantidad excesiva de muestra	Reduzca la cantidad de muestra de tejido a utilizar, a una cantidad por debajo de la especificada.
Lisis inadecuada de células (cuando se utilizan pellets congelados)	Puede darse agregación cuando LRC se añade a pellets congelados, y esto resultará en un rendimiento reducido. Los pellets congelados se deberían resuspender con 20μl de PBS antes de añadir el tampón de lavado (LRC) conteniendo 2 - ME

(4) Degradación de ARN

Causa	Posible Solución
Condiciones inadecuadas de almacenamiento de las células.	Las células deberían marcarse y congelarse en nitrógeno líquido y conservarse a –70ºC.
Contaminación por RNasa	A pesar de que todos los tampones, cartuchos y tubos de recogida de suministran libres de RNasa, la contaminación por RNasa puede presentarse durante la preparación y el almacenamiento. Extreme las precauciones para evitar la contaminación por RNasa
Contaminación por Rnasa en la solución con DNasa (para aislamiento con tratamiento de DNasa)	Utilice DNasa libre de RNasa
Calentamiento de ARN	El ARN se verá degradado si se calienta. Conserve las muestras de ARN en hielo durante los experimentos

(5) Experimentos subsiguientes (por ejemplo RT-PCR) insatisfactorios

Causa	Posible Solución
Se ha usado una cantidad inapropiada de ARN.	Determinar la concentración de ARN basada en la absorbancia a 260nm
Contaminación del ADN genómico	Aísle el ARN total por tratamiento de RNasa (modo “RNA PLUS”).
Se ha degradado el ARN	Vea sección (4)

(6) Degradación del ADN incompleta <modo "RNA CELL PLUS">

Causa	Posible Solución
La membrana no se ha sumergido completamente en la solución con DNasa	Asegúrese de que la DNasa está uniformemente distribuida sobre la membrana en los cartuchos cuando se aplica la solución con DNasa.
Insuficiente actividad de DNasa	Asegúrese de utilizar el volumen recomendado de DNasa para provocar la suficiente actividad.

(7) Aparición de precipitados en los reactivos

Causa	Posible Solución
Almacenado a baja Temperatura	Conserve las soluciones entre 15ºC y 28ºC Si hay presentes precipitados, incube la botella en baño de agua a 37ºC y mezcle invirtiendo la botella intermitentemente hasta que se disuelva el precipitado

(8) Los tubos de recogida están vacíos después de la elución

Causa	Posible Solución
Se ha olvidado realizar la Descarga	Coloque la bandeja de descarga y compruebe que los tubos de recogida y el contenedor de cartuchos estén colocados en su posición correcta. Pulse el botón "DISCHARGE" una vez cerrada la puerta frontal del instrumento. Consulte el Manual de Ususario del equipo QuickGene.

10 Información sobre pedidos

Producto	Cat #
Sistema de Aislamiento Automático de Ácido Nucleico de la serie QuickGene	
Kit S para ADN en tejidos QuickGene	DT - S
Kit de reactivos para aislar ADN genómico en tejidos para QuickGene	
Kit S para ADN en sangre total QuickGene	DB - S
Kit de reactivos para aislar ADN genómico en sangre total para QuickGene	
Kit S para ARN en tejidos QuickGene	RT - S
Kit de reactivos para purificar el ARN total en tejidos para QuickGene	
Kit S para ARN en células en cultivo QuickGene	RC - S
Kit de reactivos para purificar el ARN total en células en cultivo para QuickGene	
Kit S de ADN en Plásmidos para QuickGene	PL - S
Kit de reactivos para extraer el ADN en Plásmidos para QuickGene	

11 Contactos

http://lifescience.fujifilm.com
Fuji Photo Film Co., Ltd. LIFE SCIENCE PRODUCTS DIVISION
26-30, Nishiazabu 2-Chome, Minato-ku, TOKYO 106-8620, JAPAN
Tel:+81-3-3406-2201
Fax:+81-3-3406-2158
E-mail:sginfo@tokyo.fujifilm.co.jp

Filiales

< United States, Canada, Mexico>
Fujifilm Medical System U.S.A.,Inc.
419 West Avenue, Stamford, CT 06902, U.S.A.
Tel:+1-203-324-2000 ext.6112 (1-800-431-1850 ext. 6112 in the U.S.)
Fax:+1-203-351-4713
E-mail:SSG@fujimed.com
URL: http://lifescience.fujifilm.com/

< Europe (excl. UK and Ireland)>
Fuji Photo Film (Europe) GmbH,
Heesenstr. 31, 40549 Dusseldorf, Germany,
Tel: +49-211-5089-174
Fax: +49-211-5089-139
E-mail: lifescience@fujifilmeurope.de
URL: http://www.fujifilm.de

< UK, Ireland >
Fuji Photo Film (U.K) Ltd.
Unit 12 St Martins way, St Martins Business centre, Bedford, MK42 OLF, U.K
Tel:+44-1234-245291
Fax:+44-1234-245293
E-mail: lifesciences@fuji.co.uk
URL:http://www.fujifilm.co.uk/lifesciences/

< China >
Fuji Photo Film (China) Investment Co., Ltd.
31st floor, Hong Kong New World Tower, No.300 Huai Hai Zhong Road, Shanghai P.R China
Tel:+86-21-3302-4655~363
Fax:+86-21-6384-3322
E-mail: wgxiang@fujifilm.com.cn
URL: http://www.fujifilm.com.cn

Distribuidores

<Australia, New Zealand>
Berthold AUSTRALIA PTY Ltd.
40 Clements Avenue, BUNDOORA Victoria 3083, Australia
Tel:+61-3-9467-6277 (1-300-300-865 in Australia)
Fax:+61-3-9467-7493
E-mail: rafael@berthold.com.au
URL: http://berthold.com.au

<Korea>
Shinki Hi-Tec
GUNWHA Bldg. 7-1, Yangjae, 1-dong, Secho-gu, Saoul, 137-886 Korea
Tel:+82-2-572-1600
Fax:+82-2-572-0058
E-mail: info@skhitec.co.kr
URL: http://www.skhitec.co.kr

<Taiwan>
HUNG CHONG CORP.
No.38, Sec. 6, Min Chuan E Road, Taipei, Taiwan
Tel:+886-2-2791-1188
Fax:+886-2-2794-2248
E-mail: fuhsing@mail.hungchong.com.tw
URL: http://www.FUJIFILM.COM.TW

Apéndice 1 Los modos "RNA CELL" y "RNA CELL PLUS" se configuran con los siguientes parámetros:

	RNA CELL	RNA CELL PLUS
PARAMETRO	**VALOR**	**VALOR**
BIND PEAK	120	120
WASH COUNT	3	1
WASH PEAK	110	110
WASH VOL1	500	500
WASH VOL2	500	500
WASH VOL3	500	500
WASH VOL4	500	500
WASH VOL5	500	500
WASH DIP TM	150	150
WAS2 WAIT T	0	5
WAS2 COUNT	0	2
WAS2 PEAK	110	110
WAS2 VOL1	500	500
WAS2 VOL2	500	500
WAS2 VOL3	500	500
WAS2 VOL4	500	500
WAS2 VOL5	500	500
ELUT VOL	100	100
ELUT PEAK	100	100
ELUT DIP TM	30	30